

Pseudo-malattia di Whipple da mycobatteriosi atipica in AIDS: studio clinico ed elettromicroscopico di due casi

Daniele Dionisio¹, Simonetta Di Lollo², Domenico Milo¹, Massimo Gabbriellini³, Grazia Asirelli², Elena Giannelli², Lorenzo Mecocci¹, Enrico Tortoli⁴

Riassunto. Gli Autori illustrano due casi, studiati in microscopia ottica ed elettronica, di pseudomalattia di Whipple da mycobatteriosi atipica in AIDS. Le connotazioni differenziali con il Whipple classico sono evidenziate unitamente alle peculiarità diagnostico-terapeutiche dell'infezione da *Mycobacterium avium*-intracellulare responsabile di oltre l'80% delle mycobatteriosi atipiche in AIDS e precocemente svelata dal reperto istologico di istiociti tenuamente striati d'azzurro.

Parole chiave: AIDS, mycobacterium avium-intracellulare, mycobatteri atipici, pseudomalattia di Whipple.

Summary. *Whipple-like disease by atypical mycobacteria in AIDS: A clinical and electromicroscopical study of two cases.* The Authors focus on two cases, studied by electron and light microscopy, of Whipple-like disease caused by atypical mycobacteria in AIDS. Differential characteristics between the cases and classical Whipple's disease are analyzed with regard to the diagnostic and therapeutical peculiarities of *Mycobacterium avium*-intracellulare infection which accounts for over 80% of atypical mycobacterial infections in AIDS. In this regard the Authors stress the role of histological findings of pale blue striated histiocytes as a marker of *Mycobacterium avium*-intracellulare infection.

Key words: AIDS, atypical mycobacteria, mycobacterium avium-intracellulare, Whipple-like disease.

Introduzione

La malattia di Whipple è un raro disordine caratterizzato da infiltrati macrofagici PAS-positivi nella tonaca propria di duodeno e digiuno oltreché in polmone, sinovie, tessuto nervoso centrale e periferico, linfonodi, fegato, milza, testicoli, etc.⁸ In microscopia elettronica i macrofagi appaiono repleti di bacilli, integri ed in vario stadio degenerativo, con parete di circa 20 nanometri, membrana plasmatica trilaminare, range dimensionale di $1,5-2,5 \mu \times 0,2 \mu^4$.

Manca a tutt'oggi l'identificazione univoca di un singolo genere o specie batterica. Ciononostante, studi colturali e di immunofluorescenza sembrano indicare, fra i più probabili, i Corynebatteri aerobianaerobi, gli Streptococchi α -emolitici, gli Streptococchi β -emolitici di gruppo A-B-C-G⁴. In termini etiopatogenetici non appare, comunque, essenziale un definito microrganismo, quanto un deficit immunitario espresso, nello specifico, da anergia cutanea e da ridotta risposta linfocitaria in vitro a PPD e a fitoemagglutinina. In quest'ottica la ipofunzionalità macrofagica del quadro in oggetto è intesa come primitiva mentre l'anergia cutanea e il deficit linfocitario conseguirebbero alla perdita di linfociti per essudazione endointestinale da stasi linfatica intravillosa. In termini anatomici è, infatti, nota la deformazione dei villi intestinali (tozzi e slargati) per effetto dell'infiltrato macrofagico altresì produttivo in situ di dilatazione vascolare linfatica. Ne conseguono malassorbimento, steatorrea cronica, dimagrimento, addominoalgia.

La malattia di Whipple è, dunque, condizionata dalla sussistenza ed entità del difetto immunitario relegandosi il ruolo microbico a semplice opportunismo. In questi termini è logico ammettere la possibilità di quadri Whipple-like per qualsiasi condizione patologica implicativa di deficit linfocitario-macrofagico. Di fatto tali quadri sono oggi peculiari della Sindrome da Immunodeficienza Acquisita (AIDS)^{7 14}. In AIDS, tuttavia, solo *Mycobacterium avium*-intracellulare (MAI), responsabile di oltre l'80% delle mycobatteriosi in essa descritte e, sporadicamente, *Corynebacterium equi* sono stati imputati, pur ritenendosi probabili ulteriori misconosciuti microrganismi effettori^{5 10 12 13}. Si aggiunga che la espressività clinico-istologica del Whipple è, in AIDS, diversa e nettamente più grave della forma classica. Per questi motivi e per gli impliciti riflessi prognostico-terapeutici, può risultare utile l'illustrazione di due casi di pseudo-malattia di Whipple da mycobatteriosi atipica in AIDS studiati in microscopia ottica ed elettronica. In entrambi i casi i dati disponibili non hanno consentito la definizione di specie degli isolati.

¹ Divisione Malattie infettive, Policlinico di Careggi, Firenze

² Istituto di Anatomia patologica, Università, Firenze

³ Divisione Gastroenterologia, Policlinico di Careggi, Firenze

⁴ Laboratorio di Microbiologia, Policlinico di Careggi, Firenze

Pervenuto l'1 dicembre 1989

Nondimeno, le connotazioni istologiche in microscopia ottica ed elettronica e le recenti acquisizioni sulla mycobatteriosi atipica in AIDS, ne suggeriscono la eziologia da MAI¹.

Casi clinici

Caso n. 1. D.G.G. trentunenne maschio omosessuale, sieropositivo per HIV e con CD4 = 86 mmc all'atto del ricovero ospedaliero (luglio 1988) determinato da diarrea cronica, febbricola, emaciazione, dolenzia addominale diffusa. Nessuna modificazione dell'alvo né delle condizioni generali ottiene la farmacoterapia specifica consecutiva all'isolamento fecale di *Isospora belli*. Il paziente viene a morte dopo 90 giorni dal ricovero. In sede autoptica il rilievo di infezione mycobatterica pluriviscerale si contrappone alla costante negatività delle emocolture, anche in Isolator, e delle indagini microbiologiche fecali, anche per mycobatteri, ripetutamente eseguite in degenza. L'esame macroscopico dimostra, infatti, diffusa adenomegalia mesenterica e lomboaortica con presenza di masse carnose bianco-grigiastre, solo focalmente necrotiche, nei parenchimi splenico, epatico e polmonare. La parete del colon appare ispessita in tutta la sua estensione con disegno mucoso grossolano e superficie epiteliale saltuariamente erosa.

Numerosi frammenti sono prelevati dai diversi visceri per indagine istologica, istochimica, microbiologica. Da tali frammenti, fissati in formalina tamponata al 10% e inclusi in paraffina, sono ottenute sezioni colorate con ematossilina-eosina, PAS, PAS-D, Giemsa, Grocott, Ziehl-Neelsen. Piccoli frammenti, relativi agli stessi visceri, sono preparati per l'esame ultramicroscopico dopo fissazione con glutaraldeide tamponata e tetraossido di osmio. L'esame istologico mette in evidenza il diffuso infarcimento della tonaca propria colica da parte di macrofagi dal citoplasma finemente schiumoso (Gaucher-like) o striato, debolmente eosinofilo e contenente esili strutture filamentose dalla tenue tonalità azzurra (figura 1). L'epitelio ghiandolare appare ipotrofico, le strutture secernenti rarefatte e la lamina di rivestimento appiattita, talora discontinuata. Con metodiche istochimiche si dimostra che i macrofagi contengono organismi intracitoplasmatici, allungati a bastoncino, intensamente positivi alla PAS-reazione, più

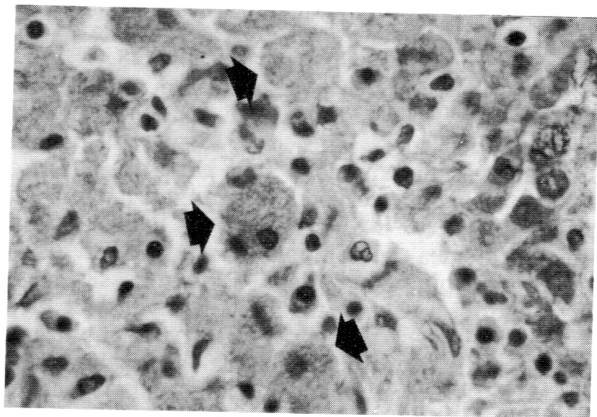


Figura 1. - Macrofagi Gaucher-like (PAS: originale 400x).

debolmente alla impregnazione argentea (Grocott) e specificamente alcool-acido resistenti (Ziehl-Neelsen) (figura 2).

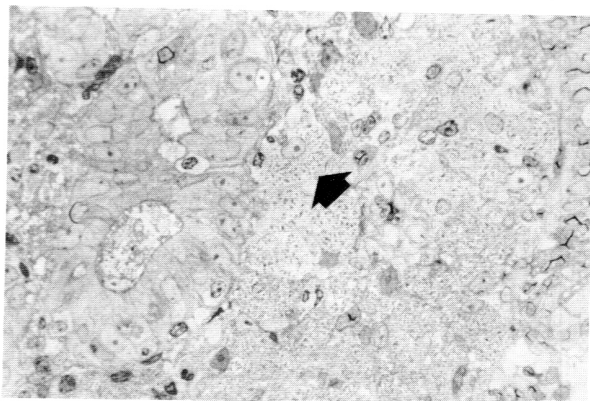


Figura 2. - Mycobatteri intramacrofagici (blu toluidina - Sez. semifine: 1.000x).

Nella sottomucosa minima appare la infiltrazione flogistica mentre i vasi linfatici risultano indenni e di calibro normale. Il quadro istologico, pur con qualche differenza, mostra notevoli similitudini con quello della malattia di Whipple. I dati istologico ed istochimico orientano verso la diagnosi di impegno intestinale da *Mycobacterium*. Negli altri tessuti esaminati si documenta la presenza di granulomi epitelioidi contenenti rare cellule giganti plurinucleate, di minimi focolai di necrosi, di macrofagi Gaucher-like sparsi nella struttura organica. Tali macrofagi mostrano la reattività istologica ed istochimica di quelli della tonaca propria intestinale. L'esame ultramicroscopico dimostra, all'interno dei macrofagi, la presenza di microrganismi in perfetto stato di conservazione, a forma di bacchetta, dalle dimensioni di $2,0-2,5 \mu \times 0,3 \mu$, con parete elettrondensa alla periferia ed area centrale lucente (figure 3 e 4). La morfologia e le dimensioni consentono di identificare tali organismi come mycobatteri atipici. Nessuna crescita mycobatterica si ottiene dai frammenti autoptici posti in coltura specifica.

Caso n. 2. M.A. ventinovenne maschio tossicodipendente, sieropositivo per HIV e con CD4 = 188 mmc all'atto del ricovero ospedaliero (agosto 1989) determinato da piresia continua, gastralgia e addominalgia diffusa persistenti dall'inizio del mese precedente. In degenza, insorgenza e mantenimento di alvo moderatamente diarroico. Le indagini ecografica, TAC e microbiologica fecale dimostrano, rispettivamente, grossolane e diffuse tumefazioni linfonodali dell'addome ed intensa positività batterioscopica per organismi alcool-acido resistenti (Ziehl-Neelsen) morfologicamente definiti come mycobatteri non tubercolari (figura 5).

L'indagine endoscopica mette in evidenza una mucosa discromica e di aspetto angectasico al bulbo duodenale. L'esame istologico, condotto su biopsie endoscopiche multiple, documenta una diminuzione di altezza dei villi duodenali che appaiono molto larghi alla base, una diffusa infiltrazione di macrofagi nella tonaca propria, una spiccata atrofia dell'epitelio di rivestimento duodenale. Gli istiociti evidenziano abbondante citoplasma lievemente striato d'azzurro e contengono microrganismi intensamen-

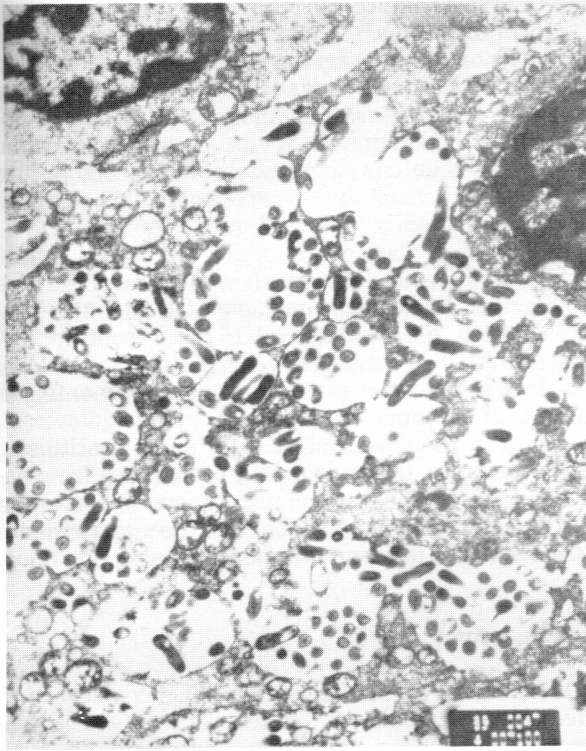


Figura 3. - Mycobatteri atipici intramacrofici (mic. elettronico: 12.000x).

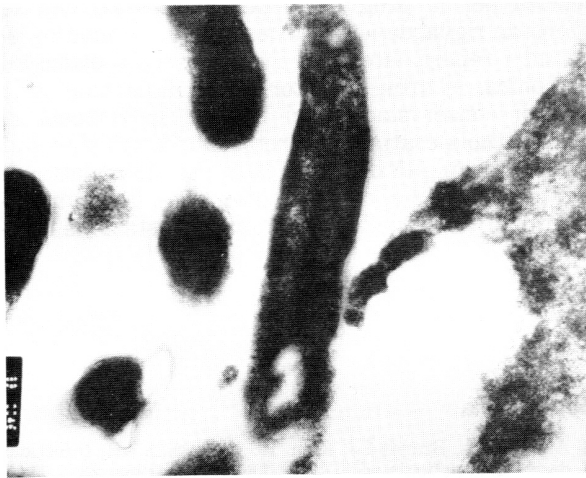


Figura 4. - Mycobatteri atipici intramacrofici (mic. elettronico: 32.000x).

te PAS e Ziehl-Neelsen positivi. Nei piccoli frammenti biotici non si documenta dilatazione alcuna dei vasi linfatici. Il reperto ultrastrutturale è sovrapponibile a quello rilevato nel caso precedente.

Nessuna positività per mycobatteri è ottenuta dalle ripetute emocolture in Isolator.

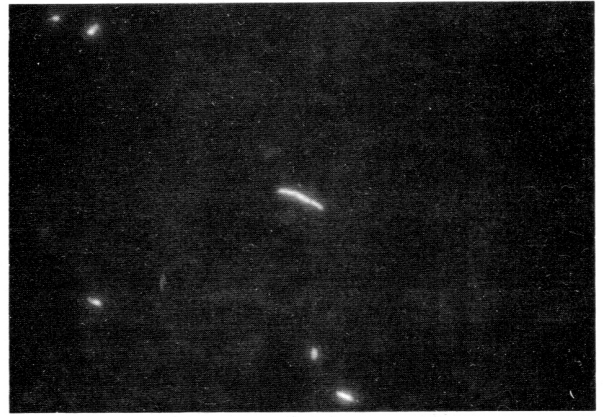


Figura 5. - Feci: mycobatteri atipici (mic. a fluorescenza: originale 1.000x).

Posta diagnosi di mycobatteriosi atipica, presuntivamente da MAI, ad espressione Whipple-like, è instaurata polichemioterapia specifica (amikacina, etambutolo, rifampicina, ofloxacina, clofazimina) con esito in lento ma progressivo recupero delle condizioni generali, dell'alvo e della temperatura, nonostante la permanente positività fecale per mycobatteri altresì consistentemente presenti in sede di midollo osseo ad oltre un mese dall'inizio della terapia (figura 6).

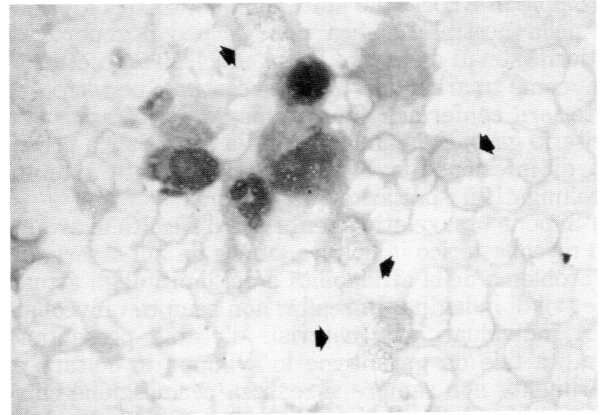


Figura 6. - Midollo osseo: mycobatteri (originale 1.000x).

Discussione

Dall'analisi dei casi descritti emerge l'importanza delle connotazioni differenziali fra il Whipple classico e quello in AIDS.

Al riguardo, la positività alla reazione di Ziehl-Neelsen dei nostri soggetti escludeva il Whipple classico e deponeva per mycobatteriosi. Più in particolare, la costanza istologica di istiociti debolmente

striati d'azzurro in entrambi i casi orientava verso un'infezione da MAI patologia della quale tale reperto costituirebbe, in accordo con la letteratura, marker esclusivo⁶. Al riguardo, una disposizione architetturale compatibile con infezione da MAI era osservata nei nostri casi per la presenza di granulomi nei soli parenchimi solidi (focolai di necrosi non caseosa e rare cellule di Langhans senza fibrosi né linfociti né plasmacellule né calcificazioni) ma con assenza degli stessi nelle mucose e in quella intestinale in particolare. In effetti è ormai documentata, nella infezione da MAI, la eccezionalità dell'infiltrato linfocitario, della fibrosi, della necrosi, delle cellule di Langhans, delle calcificazioni, degli istiociti epitelioidi viceversa presenti nelle patologie da *Myc. tuberculosis* e *kansasii* (affezioni, tra l'altro responsive alla maggioranza dei comuni antitubercolari spesso inefficaci su MAI). D'altra parte, la perfetta integrità, in entrambi i pazienti, dei batteri intracitoplasmatici deponiva per mycobatteriosi all'opposto restandosi nel Whipple originale bacilli sia intatti sia in vario stadio degenerativo^{6 9 11}. Egualmente, l'assenza di dilatazione linfatica intravillosa, da noi osservata, tradiva la mycobatteriosi essendovi, al contrario, dilatazione nel vero Whipple^{6 9 11}. Infine, la presenza intramacrofagica di bacilli larghi quanto i mitocondri (circa $2,5 \mu \times 0,3 \mu$) orientava per mycobatteriosi atipica risultando nel Whipple originale batteri di larghezza inferiore a quella mitocondriale^{9 10}.

I principali criteri distintivi fra Whipple e pseudo-Whipple in AIDS sono stati, dunque, tutti confermati nella nostra casistica non escluso il reperto di istiociti striati d'azzurro la cui conclusiva accettazione come marker di MAI necessita, peraltro, di ulteriori conferme. Ciò premesso, riteniamo tale criterio già raccomandabile per la diagnostica precoce di infezione da MAI in AIDS stante i tempi prolungati di speciazione in coltura.

Si pone ora, relativamente alla difficoltà di sviluppo mycobatterico in coltura, anche da noi osservata, il problema della affidabilità e dei limiti degli attuali metodi di indagine. In realtà, non sempre i mycobatteri individuati nei materiali d'esame presentano vitalità tale da garantirne lo sviluppo in coltura e, parimenti, non sempre si realizza permeazione ematica e/o fecale dall'originario deposito intestinale¹⁵. Per tali motivazioni, il corretto iter diagnostico della mycobatteriosi atipica deve basarsi sulla contemporanea analisi (Ziehl-Neelsen + coltura) di urine, feci, escreato, sangue oltreché, quando possibile, di frammenti tissutali preferibilmente da fegato, milza, intestino, midollo osseo^{3 15}.

Passando a considerazioni terapeutiche, è da premettere che nella mycobatteriosi da MAI in AIDS sfebbramento e parziale recupero delle condizioni generali frequentemente conseguono ad una polichemioterapia di associazione (clofazimina, alcuni dei nuovi chinolonici, etambutolo, rifampicina) mantenuta per mesi ed integrata da amikacina sino al

miglioramento clinico di solito evidente dopo i primi 30 giorni di terapia¹⁵. Nella nostra casistica uno dei pazienti non poté beneficiare della farmacoterapia essendosi conseguita diagnosi post-mortem, mentre l'altro ne trae tuttora giovamento (4° mese), perlomeno in termini di qualità di vita. In ogni caso, anche nel primo paziente la farmacoterapia avrebbe potuto dirsi d'obbligo risultando interessati, quale segno di diffusione sistemica, milza, fegato, linfonodi.

In termini di diagnostica clinica vorremmo, infine, sottolineare come addominalgia diffusa, febbre e tumefazioni linfonodali multiple dell'addome, così ben evidenti nei casi descritti, rappresentino, nel paziente AIDS, connotazioni suggestive non solo di pseudo-Whipple ma pure e alternativamente, di linfomi, di sarcoma di Kaposi, di cytomegalovirosi. In realtà la pseudo-malattia di Whipple costituisce, in tale contesto, la patologia più probabile e frequente². In presenza degli accennati reperti lo screening per mycobatteriosi è d'obbligo e necessariamente estensibile alle feci pur in assenza di alvo diarroico.

Conclusioni

Il fenomeno AIDS ha portato alla reviviscenza di infezioni eccezionali per l'uomo. Tra queste la frequente, ancorché sottostimata, patologia da MAI spesso mimante perfettamente la malattia di Whipple. Connotazioni differenziali tra le due forme nondimeno esistono e la loro acquisizione risulta preziosa per la prognosi e per la terapia. Queste differenze riguardano, in sintesi, l'aspetto macroscopico ed i reperti istologici in microscopia ottica ed elettronica, le affinità tintoriali, le dimensioni e lo stato di conservazione dei batteri, la risposta ai farmaci. Dalla esatta interpretazione di tali elementi dipende la rapidità diagnostica di pseudo-malattia di Whipple in AIDS e, conseguentemente, la giustificazione e l'efficacia della complessa impostazione terapeutica.

Bibliografia

1. Anthony MA, Brandt LJ, Klein RS, Bernstein LH. Infectious diarrhea in patients with AIDS. *Dig Dis Sci* 1988; 33, 9:1141.
2. Cone L, Woodard D, Wade D, Curry N, Boughton W, Fiala M. Fever, weight loss, anemia, splenomegaly and abdominal lymphadenopathy are highly predictive of disseminated mycobacteriosis in patients who are HIV antibody positive. 5th International Conference on AIDS. Montreal: June 4-9 1989 (Abstracts book) TH. B.P. 53.
3. Damsker B, Bottone EJ. *Mycobacterium avium*-intracellulare from the intestinal tracts of patients with the acquired immunodeficiency syndrome: concepts regarding acquisition and pathogenesis. *J Infect Dis* 1985; 1:179.
4. Dionisio D. Ecosistema batterico intestinale. Implicazioni nella fisiopatologia dell'apparato digerente. Milano: Ghedini, 1987.
5. Gillin JS, Urmacher C, West R, Shike M. Disseminated

- mycobacterium avium-intracellulare infection in acquired immunodeficiency syndrome mimicking Whipple's disease. *Gastroenterology* 1983; 85:1187.
6. Klatt EC, Jensen DF, Meyer PR. Pathology of mycobacterium avium-intracellulare infection in acquired immunodeficiency syndrome. *Hum Path* 1987; 7:709.
 7. Kooijman CD, Poen H. Whipple-like disease in AIDS. *Histopathology* 1984; 8:705.
 8. Maizel H, Ruffin JM, Dobbins Wo III. Whipple's disease: a review of 19 patients from one hospital and a review of the literature since 1950. *Medicine* 1970; 49:175.
 9. Owen RL, Roth RI, St Hilaire RJ, Keren DF. Pseudo Whipple's disease. Intestinal infection with mycobacterium avium-intracellulare in acquired immunodeficiency syndrome [Abstract]. *Gastroenterology* 1983; 84:1267.
 10. Roth R, Owen R, Keren DF. AIDS with mycobacterium avium intracellulare. Lesions resembling those of Whipple's disease. *N Engl J Med* 1983; 21:1324.
 11. Roth R, Owen R, Keren DF, Volberding PA. Intestinal infection with mycobacterium avium-intracellulare in acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Histological and clinical comparison with Whipple's disease. *Dig Dis Sci* 1985; 5:497.
 12. Sane DC, Durack DT. Infection with rhodococcus equi in AIDS. *N Engl J Med* 1986; 314:56.
 13. Strom RL, Gruninger RP. AIDS with mycobacterium avium-intracellulare lesions resembling those of Whipple's disease. *N Engl J Med* 1983; 21:1323.
 14. Wang HH, Tollerud D, Danar D, Hanff D, Gottesdiener K, Rosen S. Another Whipple-like disease in AIDS? *N Engl J Med* 1986; 24:1577.
 15. Young LS. Mycobacterium avium complex infection. *J Infect Dis* 1988; 5:863.